

唾液の結核菌発育抑制作用に関する研究*

長崎大学風土病研究所病理部 (主任: 登倉 登教授)

国立佐賀療養所 (所長: 後藤正彦博士)

麻 生 聡
あそ う さとし

(本篇の概要は、1957年9月14日 (鹿児島)、第9回日本結核病学会九州地方会総会、並びに、1958年10月12日 (京都)、第13回国立病院療養所総合医学会に於いて口演発表した)

Growth-Inhibitory Activity of Saliva on Tubercle Bacilli. Satoshi Asō. Pathological Department, Research Institute of Endemics, Nagasaki University (Director: Prof. Noboru TOKURA), and National Saga Sanatorium (Director: Masahiko Gorō).

緒 言

諸種細菌の体内侵入の一大門戸である口腔の防禦機構の一つとして唾液が重要な役割を演ずるであろうことは、当然考えられることであつて、従来、各種細菌に対する唾液の作用については、多数の業績が発表され、甲論乙駁の論議が交されている。また、その作用因子の本態についての見解も多多発表されていて、今以つて確定した結論を得ていない。

結核菌に対する唾液の作用については、Zeyland & Piasecka-Zeyland (1938) が唾液の牛型菌に対する強い発育抑制乃至殺菌作用を認め、その作用因子は耐熱性であり、主として、Thiocyanate であると述べた報告に始まり、Dold & Ochsenreither (1940) は、同事実を追証したが、“作用因子は不明”であると言っている。我国に於いては、占部 & 大曲 (1941)、並びに、田中 (1943) は、唾液の易熱性因子による人型菌に対する殺菌作用を報告した。大平 (1948) は、しかしながら、人型菌を使用して検討した結果、唾液の結核菌増殖阻止作用は微弱であり、従来発表された唾液の抗結核菌作用には培養操作に用いられる硫酸による傷害作用が加わっているのではないかと述べている。柿沼 (1951) は、人型菌および牛型菌に対して、唾液の強い発育抑制作用乃至殺菌作用を有することを認め、作用因子は不明であるが易熱性であると言っている。平野、福士 & 大津 (1955) は、唾液の各型結核菌および非病原性抗酸性細菌に対する発育抑制作用を認め、

それが無毒株より有毒株になるに従つて顕著に表われることを報告している。片山 (1955) は、無菌人耳下腺唾液に人為的に唾液腺 Hormon である Parotin を加えると、それによつて人型菌の発育が抑制されるのを認めた。

しかるに、他面、唾液の抗結核菌作用を否定する観察も少くない。例えば、阪本 (1933) は、肺結核患者の唾液に結核菌に対する喰菌性免疫体の存在を否定し、日置 (1936) は、結核菌培養試験に於いて濾過唾液には結核菌増殖阻止物質の証明されないことを報告し、また、梅本ら (1949) は、無菌的に採取した人耳下腺唾液を Bouillon と共に加えた馬鈴薯培地に於いて人型菌の発育が抑制されなかつたことを認めた。森 (1951) は、無菌耳下腺唾液には Mucin が含まれていないが、それを添加した培地に於いて、牛型菌は別として、人型菌及び鳥型菌の発育が良好であると言っている。大江 (1951) も無菌舌下腺・顎下腺唾液を添加した各種培地に於いて結核菌の良好な発育を認め、その場合、唾液の個人差があることを知り、また、唾液だけでは結核菌の発育を見ないと言っている。無菌人唾液の結核菌発育促進因子に就いては、片山 (1954/56)、高橋 (1956) は、それを脂質の作用に帰し、また、機械的に唾液の粘稠性にもよると言っている。

しかし、園山 (1950) の観察によれば、3大唾液腺の各無菌唾液は——単独又は混合されて——デフテリア菌に対して抗菌作用を現わさないが、口腔内の自然の混合唾液にはそれがあることが知られているので、

結核菌に対しても、“無菌唾液”には抗菌作用がないにしても、口腔内の混合唾液にはそれがあるかも知れないと想像される。著者は、口腔内唾液を以つて、結核菌に対する抗菌作用、形態および生物学的性状に与える影響、作用因子について、従来慣行の方法と異なる方法によつて検討し、多少興味ある成績に到達することができたと信ずる。

第1章 固形培地による唾液の結核菌発育抑制作用の実験

従来慣行の唾液の結核菌に対する発育抑制乃至殺菌作用の研究に採用された実験方法は、主として、唾液に菌液を混じ、一定時間後、硫酸処理を施し、特殊培地に接種培養し、発生する集落の数を計算することによつて、抗菌作用を判定する方法である (plate counting method)。しかし、この方法が適当であるか否か、多少の疑惑がないではない。著者は、鳥型菌を以つて、硫酸処置をアルカリ法に代え、小川培地を使用し、“平板計算法”による実験を追試した。

実験材料並びに実験方法

1) 供試唾液

健康人および結核患者の空腹時に自然に流出する唾液を滅菌シャーレに採取して用いた。

2) 標準菌液

鳥型菌竹尾株を Sauton 培地に7日間培養し、滅

菌濾紙で脱湿、孵卵器内で乾燥、化学天秤により秤量し、磨砕コルベンを用いて生理食塩水に 10mg/cc の標準菌体浮游液を調製して実験に供した。

3) 実験方法

唾液 1.0cc に菌液 0.25cc を加えて振盪混和し、37°Cに24時間保つた後、等量の 4% NaOH を加えて20分間振盪し、その 0.1cc づつを3管の小川培地 (3% KH₂PO₄ 含有) に接種し、斜位のまま7日間培養し、発育した集落の数を数え、3管の平均を実験値とした。対照として、唾液の代わりに生理食塩水を使用し、同様の操作を行つた。集落計算と同時に、結核菌の形態および染色性に及ぼす唾液の影響を観察するために、白金線をもつて平板より釣菌し、塗抹固定、Ziehl-Neelsen 染色と Fontes 染色を施して鏡検した。結核菌を蒸溜水又は生理食塩水に混じて塗抹すると、菌体が容易に平等に拡散せず、形態の観察に困難を覚えたので、山本 (1954) に倣つて石油ベンジンを使用し、単個の菌体が明確に観察されるようにした。ただし、石油ベンジンそのものが結核菌の形態に対して多少の影響を及ぼすものであつて、試験管の石油ベンジンに結核菌を浮游させたのち、これを塗抹染色して鏡検すると、膨大した菌体が混在するのが認められるのである。しかし、載ガラスに石油ベンジンを1滴落とし、それに白金線の先端を以つて菌苔を混ぜると、短時間

表 1 人唾液の鳥型菌に対する抗菌作用の成績—培養7日後—

健 康 人					結 核 患 者						
番号	氏 名	性	年令	集落数	番号	症 状	氏 名	性	年令	集落数	化学療法
1	S. K.	♀	17	53	16	軽 症	T. N.	♂	20	20	PAS, INH.
2	A. T.	♀	16	35	17	軽 症	F. M.	♂	24	41	PAS, INH.
3	Y. T.	♀	16	82	18	軽 症	M. S.	♂	23	22	
4	S. S.	♀	16	32	19	軽 症	K. I.	♂	31	46	SM, PAS.
5	N. M.	♀	15	33	20	軽 症	K. K.	♂	39	32	
6	K. T.	♀	16	34	21	軽 症	K. T.	♂	42	38	SM, PAS.
7	F. H.	♀	15	64	22	中等症	M. K.	♀	26	44	PAS, INH.
8	H. K.	♀	16	35	23	中等症	U. T.	♂	43	36	
9	E. U.	♀	16	23	24	中等症	H. N.	♀	19	68	
10	Y. G.	♀	16	77	25	中等症	S. N.	♀	24	43	
11	M. S.	♀	16	44	26	重 症	S. A.	♀	32	63	SM, PAS.
12	K. T.	♀	16	42	27	重 症	M. H.	♀	28	78	SM, PAS.
13	F. S.	♀	16	74	28	重 症	M. U.	♀	22	86	SM, PAS, INH.
14	S. K.	♀	17	55	29	重 症	T. E.	♀	29	76	
15	K. A.	♀	15	38	30	重 症	I. T.	♂	46	86	
対照(生理食塩水)				133	対 照(生理食塩水)					201	

内に乾燥し（冬期は載ガラスを温めておく）、石油ベンジンの作用による菌体の膨化は認められないし、また、菌体が離散して形態の観察に便利であることが知られた。

実 験 成 績

培養試験の成績を一括して表1に示した。鳥型菌の場合、集落数が2週位までは増加するが、それ以降は隣接する集落が融合し、集落数が減少する結果となるので、観察は2週以内に止めた。

表1によれば、唾液の添加によつて結核菌の発育が阻止されているように見えるが、しかし、健康人と結核患者との間にも格別の相違は見られないし、また、結核患者の病期による相違も認められない。なお、疑問視されるのは対照培養の集落数が余りに少いことであつて、これは NaOH 処理によつて結核菌の大部分が殺滅されるのではないかと考えられるので、この点に関して、附加実験を行つて若干の検討を試みた。

1) 唾液 1.0cc に菌液 0.25cc を滴下し、37°C/24 時間静置した後、等量の 4% NaOH を加え、直ちに 10% HCl を滴下中和して、その 0.1cc を小川培地に接種培養し、発生する集落の数を計算した（表2）。それを表1の成績と比較すると、アルカリ処置を省いた対照の場合を含めて、集落数の著増が認められた。

表 2 4% NaOH 処理後 10×HCl 中和

番号	氏 名	性	年令	集落数 (7日)	集落数 (14日)
1	Y. A.	♀	32	636	640
2	Y. Y.	♀	30	552	563
対 照(生理食塩水)				1096	1120

2) Seitz 濾過器を以つて唾液を濾過して無菌とし、それに前記の如くに菌液を混じ、アルカリ処理を施さずに同実験を行つた。すると、表3に示すように、NaOH 処理後 HCl を以つて中和した場合よりも一層多数の集落の発生が見られた。

表 3 濾 過 唾 液

番号	氏 名	性	年令	集落数 (7日)	集落数 (14日)
1	Y. A.	♀	32	無 数	無 数
2	Y. Y.	♀	30	1595	1595
対 照 (生理食塩水)				苔 状	苔 状

また、実験に際して常に認められたことであるが、

結核菌を唾液に混入し、37°C/24 時間放置すると、結核菌が凝集して管底に沈澱する。これに NaOH を加えて振盪しても均等に拡散して浮遊する状態にはならないので、これを平板培地に接種培養して発生した集落の数は、凝集された菌塊の数に他ならないのであつて、菌体の個数であるとは言えないであろう。

顕微鏡所見の成績は、対照および唾液の作用を受けた菌体の両者に於いて、抗酸性の強い菌体が優勢に現われる場合と反対の場合とがあつて、一定の成績が得られず、菌長、Fontes 染色による顆粒数も対照との間に差異を認めることができなかった。

小 括

1) 結核菌に対する唾液の発育抑制乃至殺菌作用を研究するための予備実験の目的で、まづ、健康人および結核患者の唾液を鳥型菌に作用させた後、4% NaOH で処理し、小川培地に接種培養し、其処に発生する集落の数を計算する方法を用いたが、健康者と罹患者の差なく、或程度著明な発育抑制作用が認められた。

2) しかし、この実験成績を検討してみると、“平板計算法”（斜面固形培地でも）は、結核菌が唾液によつて凝集されることと、実験過程に於いて雑菌を処理するために使用する NaOH により結核菌が障害されることが除外されないで、このような目的の実験には適当でないと考えられた。

3) 結核菌の形態及び染色性に及ぼす唾液の影響に就いては、Ziehl-Neelsen 並びに Fontes の染色性によつて観察したが、一定の成績が得られなかつた。

第 2 章 液体培地による結核菌発育抑制作用の実験

唾液の結核菌に及ぼす抗菌作用の研究に於いては、前述の如く、“平板計算法”は不確実と考えられたので、液体培地に濾過した唾液を混和し、それに結核菌を培養し、其処に発育する菌量を測定し、それによつて効果の強弱又は有無を判定する方法を考案した。

実験材料並びに実験方法

1) 標準菌液

人型菌青山 B 株を Sauton 培地に 3 週間培養したのち、滅菌濾紙を以つて脱湿、孵卵器内で 1 時間乾燥し、化学天秤で秤量、磨砕ホルペンを以つて 5mg/cc の生理食塩水による菌体浮游液を調製した。

2) 供試唾液

健康人および結核患者の空腹時における自然流出唾液を滅菌試験管に採り、Seitz 濾過器を以つて濾過し、無菌状態として実験に供した。

3) 培養方法

10%馬血清を加えた Kirchner 培地の 2cc と濾過唾液 2cc を試験管内で混和し、前記標準菌液を 0.1cc 宛滴下し、37°C に 3 週間培養した。対照試験には唾液の代わりに生理食塩水を Kirchner 培地と等量混和したものに結核菌を培養した。

4) 菌量の測定

3 週間培養後、試験管を十分に振盪し、培養全液を鳥潟沈澱計に移し、3000R.P.M./20 分の遠心を施し、沈澱した菌量を測定した。しかし、実験の都度、結核菌の発育に差が認められ、対照の菌量に多少の変動があるので、毎回、対照の菌量を 100 とし、これに対する唾液加培地の菌量を百分率で表わしたものを実験値とした。

実験成績

実験Ⅰ. 健康人唾液の結核菌発育抑制作用

健康人 106 名をツベルクリン反応陽性者とツベルクリン

リン反応陰性・疑陽性者の 2 群にわけて、その唾液による成績を表 4 及び表 5 に示したが、表 4 のツ反応陽性者 50 名の場合の菌量は 5~45% の範囲内にあり、平均値は 23.6%、表 5 のツ反応陰性および疑陽性者 56 名の場合のそれは 13~83% の範囲内にあり、平均値 36.2%、健康人全体の菌量平均値は 30.3% である。このツベルクリン陽性者と陰性・疑陽性者の 2 群の成績を推計学的に検討すると、表 6 のように 1% の危険率で有意の差が認められ、ツベルクリン陰性・疑陽性者よりツベルクリン陽性者の唾液が抗結核菌作用が強いという結果を示し、結核免疫と唾液の抗菌作用との間に何等かの関係があるのではないかと推察される。

実験Ⅱ. 化学療法剤の唾液の結核菌発育抑制作用に及ぼす影響。

結核患者唾液の抗菌作用について実験する場合、大多数の患者が化学療法を受けているので、実験成績に及ぼす化学療法剤の影響を考慮する必要を認め、健康

表 4 健康人 (ツ反応陽性) 唾液の成績

番号	氏名	性	年令	菌量(%)	番号	氏名	性	年令	菌量(%)
1	K. K.	♂	10	5	26	I. A.	♂	3	20
2	M. F.	♂	13	5	27	S. Y.	♀	16	22
3	D. T.	♂	63	6	28	K. S.	♂	15	24
4	S. K.	♀	27	7	29	Y. Y.	♂	26	25
5	T. A.	♀	16	7	30	T. T.	♀	17	25
6	T. S.	♀	16	7	31	K. M.	♂	17	27
7	S. A.	♂	38	7	32	T. T.	♀	16	30
8	A. Y.	♂	49	9	33	Y. A.	♀	16	30
9	S. T.	♀	27	10	34	H. K.	♂	23	33
10	M. K.	♀	22	10	35	T. K.	♀	16	33
11	E. U.	♀	17	10	36	Y. K.	♀	54	35
12	K. H.	♀	42	10	37	Y. H.	♀	16	35
13	M. H.	♂	28	10	38	K. S.	♀	27	38
14	S. S.	♀	19	14	39	M. A.	♂	32	38
15	M. G.	♀	39	15	40	K. T.	♂	38	38
16	C. N.	♀	18	15	41	H. K.	♂	45	39
17	T. N.	♀	32	17	42	S. U.	♀	16	39
18	F. K.	♀	16	17	43	M. N.	♀	17	39
19	K. M.	♀	16	17	44	C. T.	♀	17	39
20	K. M.	♂	45	20	45	H. U.	♀	16	40
21	K. H.	♂	7	20	46	Y. Y.	♀	16	40
22	T. M.	♀	41	20	47	H. O.	♂	16	42
23	Y. S.	♀	10	20	48	K. K.	♀	22	44
24	S. S.	♀	40	20	49	T. H.	♀	23	44
25	M. I.	♀	15	20	50	M. K.	♀	18	45

表 5 健康人(ツ反応陰性)唾液の成績

健康人(ツ反応疑陽性)唾液の成績

番号	氏 名	性	年齢	菌量(%)	番号	氏 名	性	年齢	菌量(%)
1	N. M.	♀	45	18	32	S. T.	♀	16	13
2	H. K.	♀	65	20	33	M. T.	♂	15	22
3	M. S.	♂	41	20	34	T. A.	♂	16	25
4	Y. A.	♂	15	22	35	Y. U.	♀	16	26
5	S. M.	♀	44	24	36	H. I.	♀	16	30
6	K. S.	♀	15	25	37	H. M.	♀	15	30
7	K. M.	♀	15	26	38	M. T.	♀	17	30
8	H. T.	♂	15	26	39	E. U.	♀	16	32
9	I. A.	♀	62	28	40	M. M.	♀	16	32
10	Y. E.	♀	44	28	41	M. I.	♀	15	35
11	T. T.	♀	33	28	42	S. K.	♀	16	35
12	Y. Y.	♂	15	29	43	N. Y.	♂	15	35
13	S. T.	♂	15	32	44	F. I.	♀	15	35
14	S. A.	♀	15	32	45	K. U.	♀	16	35
15	F. H.	♀	15	32	46	K. J.	♂	15	37
16	A. S.	♀	15	34	47	A. J.	♂	16	38
17	Y. N.	♀	14	35	48	C. M.	♀	16	39
18	S. N.	♀	16	35	49	T. K.	♀	16	44
19	K. T.	♀	33	36	50	M. O.	♀	17	44
20	T. Y.	♀	15	38	51	K. H.	♂	15	45
21	E. I.	♀	16	38	52	K. E.	♂	15	45
22	T. N.	♂	77	40	53	M. E.	♀	16	47
23	T. O.	♀	15	44	54	T. T.	♀	15	52
24	T. M.	♀	16	47	55	S. S.	♀	17	58
25	S. Y.	♂	16	49	56	H. A.	♂	15	59
26	Y. K.	♀	16	50					
27	T. Z.	♀	17	50					
28	T. O.	♂	16	55					
29	E. A.	♀	41	60					
30	S. A.	♀	40	68					
31	K. M.	♂	15	83					

表 6 健康者のツ反応陰性疑陽性群と陽性群の唾液の結核菌発育抑制力比較

	平均値	平方和	例 数	不偏分散	共分散	Fo 値
陰性・疑陽性	36.2	83281	56	179.9	172.8	24.3
陽 性	23.64	35920	50	164.7		

$$F_o = 24.3 > F_{\substack{n_1=1 \\ n_2=104}}^{\alpha=0.01} = 6.9$$

人に患者と同量の抗結核剤を投与し、1時間毎にその唾液を採取し、唾液中に排泄或いは残留する同剤の影響を検討した。

1) SM について

SM 1.0g を上膊筋肉内に注射し、注射前およびその後1, 2, 3, 4, 5時間毎に唾液を採取し、前記

表 7 SM 1.0g 上膊筋肉内注射による実験成績

番号	氏 名	性	年令	直 前	1 hour	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.
1	S. A.	♂	39	20%	8%	10%	15%	19%	21%
2	A. H.	♂	34	40%	20%	23%	30%	38%	44%

実験方法により菌量を測定し、SM の影響を検討した。表 7 に示すように注射後 1 時間目に菌量の減少が見られるが、漸次菌量が増加し、4 時間後に大体注射前の菌量に復している。

2) PAS について

PAS 2.5g を内服させ、各時間毎に唾液を採り、培養試験に供した。PAS を服用した場合、数時間に亘

つて苦味が残る、PAS の口腔内残留が懸念されるが、実際は苦味を消失させようと頻回の含嗽を行い、また、多量の水分を摂取するし、かつ、苦味の刺激によつて多量の唾液が分泌され、その嚥下が行われるので、口内残留の PAS 量は想像する程多くなく、実験の結果も表 8 のように投与後 4～5 時間目に投与前の菌量に復している。

表 8 PAS 2.5g 内服による実験成績

番 号	氏 名	性	年令	直 前	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.
1	S. A.	♂	39	20%	13%	15%	15%	20%	19%
2	A. H.	♂	34	41%	15%	20%	20%	36%	40%

3) INH について

INH 0.1g を服用させ、1 時間毎に唾液を採取し、それを培養試験に供した (表 9)。INH も大体前者同

様の経過を執り、約 4 時間後に投与前の菌量に還り、それが唾液から消失することが知られた。

古川 (1956) は、SM 注射後、唾液内には 1 時間以

表 9 INH 0.1g 内服による実験成績

番 号	氏 名	性	年令	直 前	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.
1	S. A.	♂	39	18%	10%	10%	14%	17%	20%
2	A. H.	♂	34	38%	13%	15%	21%	35%	37%

内に最高の排泄量を示し、以後急速に低下、2 時間で消失すると報告し、勝沼 (1953) は、INH の唾液内排泄を Kelly-Poet 法で定量した結果、30 分後が最高で 5.6～7.0r/cc を示し、以後漸減し、7 時間で消失すると述べている。PAS の唾液内排泄の文献には接していないが、抗結核剤の唾液への排泄量は、著者の実験に於いても証明されたように、約 4～5 時間後には

結核菌の培養に影響を与えない程に減少している。それ故、化学療法を受けている患者でも、投薬後 4 時間、すなわち、食事前空腹時の唾液を採取すれば、実験には格別の影響はないと思われる。しかし、慎重を期して、SM 及び INH の週 2 回の投与日は避けて唾液を採取した。

実験Ⅲ. 肺結核患者唾液の結核菌発育抑制作用。

表 10 結核患者唾液と健康者唾液との結核菌発育抑制力比較

	平均値	平方和	例 数	不偏分散	共分散	Fo 値
結 核 患 者	21.33	66940	108	167.7	187.9	23.06
健 康 者	30.3	119201	106	208.4		

$$F_o = 23.06 > F_{n_1=1, n_2=212}^{n_1=1} (\alpha=0.01) = 6.76$$

1) まず、結核患者に於ける実験成績を健康人のそれと比較して見ると、結核患者 108名についての菌量は3~62%の範囲内にあり、その平均値は21.3%、健康人106名に於ける菌量は5~83%、平均値 30.3%となる。これを推計学によつて検討すると、1%の危険率で有意の差が認められ、結核患者の唾液が健康人のよりも結核菌の発育抑制力が強いことが判かる(表10)。

2) 肺結核の進展度の分類及び基準により(山口1955)、患者の胸部X線所見を見て、軽症、中等症、

重症に分類し、それらの唾液による成績を表11, 12, 13, 14に示した。軽症50名の菌量平均値は18.6%、中等症 31名のそれは 17.0%、重症27名のそれは31.4%となり、中等症、軽症、重症の順に平均菌量が増加している。これら相互間の比較を推計学によつて検討すると(表15及び16)、中等症、軽症間に有意の差が見られず、軽症と重症、中等症と重症間には各々1%の危険率で有意の差が認められた。

表 11 軽症患者唾液の実験成績

番号	氏 名	性	年令	菌量	排菌	血沈	体温	化学療法	番号	氏 名	性	年令	菌量	排菌	血沈	体温	化学療法
1	Y. T.	♂	26	3	—	28	36.9		26	T. N.	♂	18	15	—	17	36.7	
2	Y. T.	♂	33	3	—	2.5	36.8		27	G. T.	♂	23	16	培養 ++	16	37.0	SM. PAS
3	K. Y.	♂	34	3	—	13	36.7	SM. PAS	28	K. S.	♀	33	16	—	31.5	36.8	PAS. INH
4	M. K.	♂	46	3	—	1.7	36.8	PAS. INH	29	O. J.	♂	32	17	—	11	36.9	SM. PAS INH
5	K. M.	♂	30	4	—	14	36.8	SM. PAS. INH	30	S. H.	♂	29	17	—	2.8	37.1	SM. PAS
6	S. E.	♀	37	5	—	36.5	37.0	SM. PAS. INH	31	M. E.	♂	32	17	—	2.5	36.8	
7	M. K.	♂	41	5	—	3.5	36.8	PAS. INH	32	T. S.	♂	48	20	—	13.3	36.3	SM. PAS. INH
8	S. O.	♀	33	6	—	5	37.0		33	S. H.	♂	25	20	—	8	37.0	SM. PAS
9	F. F.	♀	40	7	—	38.2	36.6		34	Y. K.	♂	32	25	—	5.2	36.7	SM. PAS. INH
10	C. G.	♂	40	7	—	18.5	37.1	PAS. INH	35	J. T.	♂	44	25	—	1.3	36.8	SM
11	Y. K.	♀	38	7	—	52	36.7		36	T. N.	♂	34	25	G3	39.7	36.5	
12	H. K.	♀	25	8	—	26	37.0	SM. PAS. INH	37	K. S.	♀	26	25	—	9	36.8	
13	S. T.	♀	22	10	—	6.7	36.7		38	Y. M.	♀	37	25	—	3.7	36.8	SM. PAS
14	M. U.	♀	35	10	—	18	37.0		39	M. A.	♂	23	25	—	29.5	36.9	
15	T. K.	♂	20	10	—	46	36.8		40	S. H.	♂	25	27	—	2.5	37.0	
16	H. N.	♀	49	10	—	35.5	36.9	PAS. INH	41	T. S.	♂	29	29	—	1.8	36.8	
17	I. E.	♂	42	12	—	7	36.7	PAS. INH	42	M. Y.	♀	25	30	—	4.8	37.2	
18	S. N.	♂	27	13	—	4	36.6	PAS. INH	43	K. K.	♀	68	30	—	66	36.7	
16	M. N.	♀	39	13	—	7.7	37.2		44	H. Y.	♂	37	30	—	13	36.6	SM. PAS. INH
20	H. M.	♂	43	13	—	9	36.5	PAS. INH	45	K. K.	♂	46	40	—	1.8	36.8	
21	K. I.	♀	50	13	—	8.8	36.8		46	K. M.	♂	29	40	—	2	36.5	SM. PAS. INH
22	T. I.	♂	29	14	—	2.5	36.6		47	T. M.	♀	32	40	—	17.3	36.9	PAS. INH
23	K. M.	♀	36	14	—	8.8	36.8		48	K. M.	♂	29	44	—	6.5	36.8	SM. PAS. INH
24	M. Y.	♂	43	14	—	6	36.7		49	M. T.	♀	48	48	—	42	37.2	
25	K. K.	♂	40	15	—	1.8	36.7		50	K. N.	♀	25	62	—	2.5	37.0	PAS. INH

表 12 中等症患者唾液の実験成績

番 号	氏 名	性	年令	菌量	排菌	血 沈	体 温	化 学 療 法
1	H.H.	♀	31	6	G 3	21.8	37.1	PAS. INH
2	S.M.	♀	26	6	—	12	37.0	
3	H.K.	♂	33	7	—	23	36.6	SM. PAS. INH
4	M.M.	♂	27	8	—	2.8	36.6	PAS. INH
5	S.T.	♀	28	8	—	42.3	36.7	SM. PAS. INH
6	R.I.	♀	45	10	—	8	36.7	PAS. INH
7	S.N.	♂	29	11	—	1.7	36.7	SM. INH
8	K.S.	♂	53	11	G 4	36.6	36.6	PAS. INH
9	T.K.	♂	22	12	—	6.5	36.9	PAS.
10	M.T.	♀	41	13	G 7	83.3	37.5	PAS. INH
11	J.T.	♂	48	13	G 4	66	36.5	SM. PAS. INH
12	M.U.	♂	25	13	G 3	21	36.6	PAS. INH
13	H.M.	♂	33	14	G 7	15	36.8	SM. PAS. INH
14	A.N.	♂	17	14	—	25	36.5	PZA. INH
15	H.N.	♂	35	14	G 3	31	36.6	
16	S.S.	♀	42	14	—	46.3	37.0	INH. PAS
17	E.T.	♀	25	15	—	33	36.7	PAS. INH
18	K.S.	♂	42	15	培の	36.3	36.6	PAS. INH
19	K.S.	♀	23	16	—	76.7	37.0	SM. PAS
20	T.N.	♀	27	17	—	12	36.7	
21	K.I.	♂	39	17	—	51.5	37.5	SM. INH
22	Y.M.	♂	30	17	—	35.5	36.8	PAS. INH
23	M.K.	♂	43	17	—	9	36.5	SM. PAS
24	K.M.	♂	37	20	G 6	70	36.7	INH
25	G.K.	♂	31	22	G 5	5.8	37.1	PAS. INH
26	M.N.	♂	20	22	—	14	36.8	SM. PAS. INH
27	Y.T.	♂	31	25	—	12	36.9	PAS. INH
28	Y.K.	♂	21	29	—	7	36.6	SM. PAS. INH
29	K.A.	♂	16	40	—	20.5	36.6	SM. PAS
30	F.N.	♀	16	40	G 4	34.5	36.6	PAS. INH
31	M.M.	♂	16	40	—	6	36.8	

3) 重症者をツベルクリン陽性及び陰性・疑陽性の2群に分けて比較して見ると、表17のようにツ反応陽性17名の平均菌量は29.1%, 陰性・疑陽性10名のそれは35.4%で、後者の唾液の方が抗結核菌作用が弱いように見えるが、推計学によれば有意の差がない。

4) 表11~14に各患者の血沈値を記載したが、それと唾液の抗菌作用との間には特定の関係は認められない。

実験Ⅳ. 免疫処置が唾液の結核菌発育抑制作用に及ぼす影響

前記実験成績から健康者に於いてもツベルクリン陽性者の唾液が陰性・疑陽性者のそれよりも結核菌に対

する抗菌作用強く、また、それが結核患者に於いては更に強いことが判明したが、このことから唾液抗菌性には全身免疫が関与するのではないかと推察されたので、ツベルクリン陰性・疑陽性の健康者、並びに、健康家兎に結核免疫を施し、それが唾液抗菌性に及ぼす影響を検討した。

1) 人体についての実験

中原村中学校生徒及び当所附属看護学院生徒に1:2000のツベルクリン診断液によるツ反応を検査し、判定結果が陰性及び疑陽性の者36名を選び、通法に従ってBCG接種を行い、5ヶ月後にツ反応を検査するとともに唾液を採取し、BCG接種前の唾液とその結核菌

表 13 重症（ツ反応陽性）患者唾液の実験成績

番号	氏 名	性	年令	菌量	排菌	血 沈	体 温	ツ反応	化 学 療 法
1	M.N.	♂	33	13	G 3	29.8	36.8	13×14	
2	H.M.	♂	37	20	培の	6	36.6	16×17	PAS. INH
3	K.M.	♀	29	20	G 5	67	37.1	12×13 46×33	INH
4	J.S.	♂	44	20	G 5	58	36.6	10×14	SM. PAS. INH
5	M.A.	♂	33	21	G 6	36	37.1	12×15	INH
6	I.N.	♂	34	21	G 6	32.3	37.7	8×8 18×13	INH
7	S.N.	♀	55	21	G 4	55	37.2	9×10	SM. PAS. INH
8	M.N.	♂	26	24	G 8	38.5	37.1	12×18 46×30	INH
9	M.T.	♂	33	25	G 4	78	36.9	20×18	
10	C.K.	♀	24	27	G 7	45.5	36.7	16×20	TbI
11	S.A.	♀	33	33	G 7	59.5	36.9	14×15	SM. PAS. INH
12	Y.I.	♂	36	35	G 5	26	37.5	12×19	PAS. INH
13	S.H.	♂	39	38	G 2	47	37.0	12×20	SM. PAS
14	T.K.	♀	28	38	—	26	36.7	13×14	SM. PAS. INH
15	T.I.	♂	42	38	G 8	35.5	37.0	12×14	INH
16	S.I.	♂	29	50	G 7	25.3	37.5	12×10 36×40	PAS. INH
17	I.S.	♂	53	50	G 5	76.7	36.6	16×16	

表 14 重症（ツ反応陰性・疑陽性）患者唾液の成績

番号	氏 名	性	年令	菌量	排菌	血 沈	体 温	ツ反応	化 学 療 法
18	F.Y.	♀	45	20	G 7	94	36.8	6×7	SM. PAS. INH
19	M.M.	♀	27	26	培の	52.5	37.3	0	PAS. INH
20	U.H.	♀	57	28	G 5	64.3	37.2	5×5	SM. PAS. INH
21	S.S.	♂	34	30	G 4	78	37.5	1×2	SM. PAS. INH
22	M.H.	♀	25	30	G 3	46	37.1	1×1	PAS. INH
23	K.A.	♂	39	40	—	38	36.9	6×7	
24	M.H.	♀	23	40	G 4	33	38.3	3×2	PAS. INH
25	Y.K.	♂	19	40	G 5	21	37.2	4×6	SM. PAS. INH
26	M.A.	♂	44	50	G 6	88.2	37.2	5×6	
27	T.H.	♂	18	50	—	70	37.5	5×6	INH. PZA

表 15 軽症唾液と重症唾液との比較

	平 均 値	平 方 和	例 数	不 偏 分 散	共 分 散	Fo 値
軽 症	18.6	25690	50	212.1		
重 症	31.4	29728	27	119.5	180	15.96

$$Fo = 15.96 > F_{\substack{n_1=1 \\ n_2=75}}^{\alpha=0.01} = 3.97$$

表 16 中等症唾液と重症唾液との比較

	平均値	平方和	例数	不偏分散	共分散	Fo 値
中等症	17	11522	31	85.43	101.2	29.57
重症	31.4	29728	27	119.5		

$$F_o = 29.57 > F_{n_1=1, n_2=56}^{n_1=1} (\alpha=0.01) \doteq 4.02$$

表 17 重症ツ反応陽性群と重症ツ反応陰性・疑陽性群の唾液の比較

ツ 反 応	平均値	平方和	例数	不偏分散	共分散	Fo 値
陽性群	29.1	16268	17	117	112	2.23
陰性・疑陽性群	35.4	13460	10	103.15		

$$F_o = 2.23 < F_{n_1=1, n_2=25}^{n_1=1} (\alpha=0.05) = 4.24$$

表 18 免疫前後の唾液の成績

免 疫 前						免 疫 後		免 疫 前						免 疫 後	
番号	氏名	性	年令	ツ反応	菌量	ツ反応	菌量	番号	氏名	性	年令	ツ反応	菌量	ツ反応	菌量
1	T.Z.	♀	17	0	50	8×8	28	19	H.I.	♀	17	9×9	20	9×9	17
2	S.N.	♀	16	0	35	10×12	13	20	M.I.	♀	16	7×8	35	9×12	21
3	Y.K.	♀	16	0	50	25×18	24	21	E.U.	♀	17	6×7	32	7×8	23
4	T.M.	♀	16	0	37	17×20	17	22	T.U.	♀	15	7×9	26	5×6	11
5	K.M.	♂	15	0	83	7×7	27	23	S.K.	♀	17	6×7	35	10×9	15
6	E.I.	♀	16	0	38	7×7	13	24	T.T.	♀	16	7×6	52	18×16	32
7	Y.K.	♂	15	0	22	10×8	17	25	C.M.	♀	16	7×8	39	10×10 20×28	20
8	A.S.	♀	15	0	35	15×12	20	26	M.T.	♀	15	5×3	30	20×20	13
9	Y.N.	♀	14	0	32	8×9	10	27	T.A.	♂	16	9×7	25	10×10	18
10	K.S.	♀	15	0	25	12×12	13	28	M.T.	♂	14	2×5	22	7×6	13
11	T.O.	♂	15	0	55	13×14	11	29	M.M.	♀	15	6×4	32	10×10	26
12	F.H.	♀	15	0	34	6×6	5	30	A.J.	♂	15	7×8	38	15×12	21
13	S.T.	♂	15	0	32	3×5	20	31	K.H.	♂	15	9×7	45	11×8	18
14	K.M.	♀	15	0	26	11×8	21	32	K.E.	♂	15	4×5	45	12×13	42
15	T.Y.	♀	16	0	38	2×3	13	33	S.S.	♀	15	6×7	58	8×8	18
16	S.A.	♀	15	0	32	8×8	20	34	K.U.	♀	15	6×7	35	11×9	13
17	T.O.	♀	16	0	44	7×8	20	35	K.J.	♂	15	5×5	37	10×8	33
18	H.T.	♂	15	3×4	26	5×6	18	36	H.A.	♂	15	3×5	59	10×10	13

	平均値	例数	差	差の不偏分散	Fo 値
免 疫 前	37.8	36	18.9	124.9	12.15
免 疫 後	18.8	36			

$$F_o = 12.15 > F_{n_1=1, n_2=34}^{n_1=1} (\alpha=0.01) = 7.44$$

發育抑制作用を比較した。

表18に示すように、BCG 接種前のツ反応陰性・疑陽性の生徒36名の唾液による菌量は20～83%の範囲内にあり、その平均値は37.8%であるが、これを BCG 接種によつて免疫すると（ツ反応が陽転していないものも若干は含まれているが）、その菌量は5～42%を示し、その平均値は21.1%となり、推計学的には1%の危険率に於いて有意の差があつて、免疫処置によつて唾液抗菌性の増強を來たしたことは疑えない。なお、唾液の抗結核菌作用の強弱とツ反応のそれとは平行関係が認められないことは、患者の場合と同様であつた。

2) 家兎についての実験

健常家兎に1:10の旧ツベルクリン 0.1cc 宛側腹部皮下内に注射し、48時間後に検査し、腫脹または発赤が10mm以下のもの10匹を選んで実験に用いた。唾液採取当日は絶食させ、1%塩酸ピロカルピン液 0.5

cc 側腹部皮下に注射し、数分後に流出する唾液を滅菌シャーレに受けて採つた。Rosenthal et al (1939)は動物の唾液には炭酸塩が含まれ、これが抗菌因子をなすと報告しているので、採取した家兎の唾液を一昼夜氷室に静置し、塩類を沈澱させた後、Seitz 濾過器で濾過して実験に供した。

実験家兎の免疫には、人型菌青山B株をSauton 培地に3週間培養した後、100°C/60 分加熱した菌体を生理食塩水で数回洗滌し、滅菌濾紙で吸湿、孵卵器内で乾燥して秤量、磨砕ホルベンに移し、“adjuvant”として滅菌流動 paraffin を以つて 20mg/cc の菌体浮游液を調製し、その 1.0cc を側腹部皮下に7日間隔で3回注射を施した。ワクチン接種完了後5週目にツ反応を検し、唾液を採取、実験に供した。実験家兎の接種部位には総べて潰瘍形成が認められた。

実験成績は、表19に示すように、免疫前の家兎の場

表 19 家兎免疫前後の唾液による成績

免 疫 前					免 疫 後		
番 号	性	体 重	ツ反応	菌 量	体 重	ツ反応	菌 量
I	♀	2.4kg	2×3	44	2.6kg	$\frac{10 \times 10}{24 \times 20}$	17
II	♀	2.9	0	89	2.8	$\frac{10 \times 10}{20 \times 18}$	33
III	♀	2.6	2×2	33	2.8	$\frac{12 \times 13}{12 \times 12}$	21
IV	♀	2.8	5×5	44	3.0	$\frac{38 \times 35}{38 \times 35}$	46
V	♂	3.2	3×4	44	3.1	$\frac{10 \times 10}{22 \times 18}$	25
VI	♀	3.6	5×5	56	3.6	$\frac{10 \times 12}{24 \times 20}$	8
VII	♀	3.5	5×5	25	3.5	$\frac{12 \times 12}{20 \times 20}$	4
VIII	♂	3.4	3×4	38	3.5	$\frac{15 \times 15}{25 \times 20}$	12
IX	♀	3.0	7×7	40	3.0	$\frac{10 \times 10}{20 \times 25}$	10
X	♀	3.4	6×7	30	3.3	$\frac{10 \times 11}{20 \times 20}$	15

	平 均 値	例 数	差	差の不偏分散	Fo 値
免 疫 前	44.3	10	25.2	284.6	22.3
免 疫 後	19.1	10			

$$F_o = 22.3 > F_{\frac{n_1=1}{n_2=9}}^{\alpha=0.01} = 10.56$$

合は菌量が25～89%の値を示し、平均値44.3%であるが、免疫後に於いては、4～46%の菌量を示し、平

均値19.1%となり、それは推計学的に1%の危険率に於いて有意の差であつて、免疫処置による唾液の抗菌

性の増強が明かに見られたとすることができる。

小 括

1) 健康者の濾過唾液を Kirchner 培地と等量に混和し、それに人型菌を3週間培養し、其処に発育する菌量(容量)を測定すると、結核菌の発育が唾液のために抑制されたことが認められる。しかも、唾液の效果に個人差が著しいので、ツベルクリン陽性と陰性・疑陽性の2群に分類して観察すると、ツベルクリン陽性群の唾液の方が抗結核菌作用の強いことが判明した。

2) 結核患者の唾液の抗菌作用について実験するに先立ち、化学療法剤の唾液移行による影響を検討したが、SM, PAS, INH ともに、投与後4~5時間経過すると、結核菌の発育に影響を与えない程の量に唾液から消滅又は減少することを知った。

3) 肺結核患者の唾液の抗結核菌作用は、健康人のそれよりも遙に強く、しかも、中等症及び軽症に於いては重症の場合よりも有意の差を以て強いことが知られた。重症に於いては、ツベルクリン陽性群より陰性・疑陽性群の方が算術平均では弱いように思われるが、推計学的検討によれば其処に有意の差が認められない。

4) ツベルクリン陰性・疑陽性の健康な生徒36名にBCG接種によつて免疫を行い、その唾液の結核菌発育抑制作用が増強し、それによる平均菌量が37.8%より18.8%に低下したことを知った。

5) また、ツベルクリン陰性の家兎10匹を流動paraffinをadjuvantとした結核死菌ワクチンを以て免疫し、その唾液の作用によつて平均菌量が44.3%より19.1%に低下し、免疫処置による唾液の抗菌作用の増強が認められた。

第3章 結核菌の生態に及ぼす唾液の影響

唾液、就中、抗結核免疫の状態にある個体のそれによつて結核菌の発育が抑制されることが判明したが、それは単に静菌的作用に止まるものであるか、或いは、殺菌的作用を呈するものであるか、また、菌体の形態に何等かの変化を与えるものであるかという問題が残る。児玉(1991)は、結核菌に骨関節結核膿を濾過して得た膿清を作用させて抗酸性の顆粒形の出現を観察しているが、このようなことが唾液の作用によつても起こるか否か等を知るために二・三の実験を試みた。

実験Ⅰ. 結核菌に対する唾液の抗菌性の属性につ

いて

第2章に記述したように、液体培地に唾液を混じ、それに結核菌を培養すると、其処に発育する菌量に著明な減少が見られ、それによつて結核菌に対する唾液の抗菌性が知られたのであるが、発育阻止の最顕著な試験管から釣菌して小川培地に接種し、4週間培養した結果、対照培地(無唾液)から移植した場合と殆ど同じように無数の集落の発生を見た。それ故、この場合、唾液の作用は、静菌的(発育抑制)に止どまり、殺菌性にまでは至らないことが証明されたと言えるであろう。

実験Ⅱ. 唾液の作用を受けた結核菌の発育形態と抗酸性の変化について

Kirchnerの液体培地に唾液を等量に混じ、それに供試結核菌を3週間培養し、発育抑制の見られた試験の管底から駒込ピペットで静かに吸上げ、載ガラスに1滴移し、そのまま孵卵器内で乾燥、火焰固定をし、児玉(1951)が推奨した植田(1951)のZiehl-Heidenhein染色法を施し、結核菌の発育の形態を観察した。

対照培養の生理食塩水加培地内の結核菌は、大多数、Carbol-Fuchsin染色の抗酸性を示し、それが紐状に発育し、所々、その先端に附着して、Haematoxylin染色の糸状形又は桿菌形のものが認められるに過ぎないのに反し、唾液加培地内で発育した菌体は、大部分、Haematoxylin染色の桿菌であつて、紐状に連鎖して発育していないで、不定方向に菌体が集合し、その間に少数の抗酸性を示す菌体が混在するのが見られただけである。しかも、非抗酸性菌体は、部分的又は全体的に不鮮明な染色性を示すものが多数観察された。

なお、唾液を作用させた結果、非抗酸性菌体の増加を予想して、鳥潟沈澱計を以て遠心沈澱した結核菌を白金線 spatula で抄い出し、第1章に記載した石油 benzine 法を用いて載ガラスに塗抹し、前記染色法を施して観察した。第2章の実験例から任意に取った20例と対照の20例とについて、それぞれ、100菌体の中の抗酸性・非抗酸性の分布を調べた所、対照培養に於いては10.1%、唾液加培地の方は67.6%の割合に非抗酸性菌体を認め、それが後者に於いて著明に増加していることが知られた。

実験Ⅲ. 抗煮沸性について

唾液加培養10例の結核菌を載ガラスに石油ベンゼンを以て塗抹、乾燥、火焰固定、Ziehl氏液で2分間加温染色、水洗後、沸騰生理食塩水の中に入れて2分間煮沸し、水洗乾燥して鏡検したが、抗煮沸性の消失は見られなかつた。

実験Ⅳ. 顆粒数について

唾液加培養の23例の結核菌の石油ベンゼン塗抹標本を作り、Fontes 染色法を施し、一標本について任意の100ヶの菌体の顆粒数の平均値を出し、対照培養の菌体のそれと比較したが、何等差異を認めることができなかった。

小 括

唾液の作用を受けた結核菌は、対照培養の同株菌が抗酸性の紐状をなして発育しているのに反して、非抗酸性の菌体が大部分をなし、また、不明瞭な染色性を示すものが見られ、かつ、不規則に集合しているに過ぎない。しかし、抗煮沸性は失われず、Fontes 染色による顆粒の数にも何等影響を蒙っていない。

第4章 結核免疫唾液に含まれる抗菌因子に関する実験

第2章(Ⅳ)に記述したように、抗結核免疫を施すことにより、人体および家兎の唾液の結核菌に対する抗菌作用が増強するという現象が見られたが、このことは血中抗体が唾液に出現して抗菌因子をなすのではないかという予想を抱かせる。文献を見ると、抗結核免疫の動物の血清中に結核菌に対する凝集素・沈降素・補体結合性抗体を生じ、また、多核白血球・単核白血球の貪食作用を促進させることが知られている。しかし、抗結核免疫血清には溶菌性又は殺菌性の抗体は含まれていないという報告もあり(山村ら1956)、他方に於いては、血中抗体による感染防禦を認めた報告もある(伊藤1930、緒方1932、渋川1933、本間1951、辻本1952、武内1955、小谷1955、小谷ら1955、今村1956)。果たして、抗結核免疫個体の唾液の抗菌因子も血中抗体と同じく特異的抗体であるものか、或いは、免疫処置の刺激により非特異的抗菌物質の増強を来すものであるか、それは唾液抗菌作用の本態を究明するために重要な問題であると思われるので、諸方面からの観察を試みた。

実験Ⅰ. 加熱による検討

唾液抗菌性の作用因子が耐熱性であるか否かを知ることは、その本態を探る上に重要な資料となるので、無差別に取りあげた15例の唾液を50°C/30分および100°C/15分加熱した後、濾過を行い、第2章の実験方法により、その抗結核菌作用を観察した。

実験成績を表20に示したが、非加熱濾過唾液15例の平均菌量は対照培養のその15.1%、56°C/30分加熱後濾過した唾液のそれは同じく16.6%、100°C/15分

加熱濾過したものは同じく21.2%となるが、推計学によつて検討を行うと、この3者の間に有意の差を認めないので、結核菌に対する唾液抗菌性の作用因子は耐熱性であると言えると思う。

表 20 加熱による検討

番号	地 名	生唾液 を濾過	56°C/30' 加 熱	100°C/15' 加 熱
		菌量(%)	菌量(%)	菌量(%)
1	Y.M.	17	20	33
2	R.K.	14	15	20
3	K.K.	12	13	16
4	H.N.	10	10	15
5	Y.K.	35	38	41
6	K.S.	15	14	20
7	S.N.	13	15	18
8	K.T.	47	49	53
9	H.K.	8	10	13
10	A.Y.	10	12	15
11	S.A.	7	10	12
12	D.T.	6	9	11
13	M.T.	13	13	23
14	K.I.	13	15	17
15	Y.K.	7	6	11
平 均 値		15.1	16.6	21.2

しかるに、他面、唾液の結核菌に対する抗菌作用は加熱により消失するという説もある(占部&大曲1941; 田中1943; 柿沼1951)。また、Zeyland & Piasecka-Zeyland (1938)も易熱性の場合もあると言っているが、Dold & Ochsenreither (1940)、大平(1948)及び著者の実験の結果では、結核菌に関する限り、唾液抗菌性の作用因子は耐熱性ということが証明されているので、諸家の見解の相違の由つて来たる所を解明するために次の小実験を行つた。

100°C/15分加熱した唾液を濾過せずにKirchner培地に等量に混和し、それに結核菌を培養し、3週間後に培養液に含まれる沈澱量を測定すると、表21に示す10例についての平均沈澱量が対照培養の菌量の80.2%となつたが、これには結核菌の他に唾液中の雑菌、白血球、粘膜上皮および加熱により凝固した蛋白質などが含まれている筈である。しかるに、同一培地に結核菌を接種せずに37°C/3週間の後、その遠心沈澱量を測定すると、平均値は2.2%となつて、理論的に前者との差78%が増殖した結核菌であると言える。これは無加熱濾過唾液培地の菌量(沈澱)より遙かに多いが、

加熱無濾過に於いては、夾雑物を含むばかりでなく、凝固蛋白質等が栄養素となり、唾液抗菌作用に打克つて結核菌の増殖を招くことも考えられる、唾液抗菌因子は、表21の成績では易熱性と思われるが、それはこのような観察が下されるのであつて、表20の成績に示したように耐熱性であることは疑えないと思う。

表 21

培 地		濾過唾液 (接 種)	100°C/15' 加熱唾液 (接 種)	100°C/15' 加熱唾液 (非接種)
番号	氏 名	沈渣量(%)	沈渣量(%)	沈渣量(%)
1	M. Y.	30	60	2.5
2	M. N.	13	86	2.0
3	C. K.	27	100	2.0
4	Y. T.	25	75	1.5
5	T. N.	25	94	3.0
6	M. N.	13	94	2.0
7	M. K.	45	80	2.5
8	K. S.	25	75	2.0
9	S. A.	33	78	1.5
10	M. U.	10	60	3.0
平 均 値		24.6	80.2	22.2

実験Ⅱ. 唾液の抗菌作用の特異性について

抗結核免疫処置を施した個体の唾液の結核菌に対する抗菌作用の因子が特異的抗体であるとすれば、結核菌以外の細菌に対しては抗菌作用を示さない筈であるので、Salmonella typhi H 901 (九州大学医学部細菌学教室保存) 及びMicrococcus lysodeikticus (国立佐賀病院小田重夫博士保存) に肺結核患者の唾液を作用させて抗菌作用の有無を観察した。

過去10年間チフス・ワクチンによる予防接種を受けたことのない結核患者の空腹時の唾液を採り、Seitz濾過器で濾過し、その2.0ccをBouillon 2.0ccと試験管内で混和し、それにS. typhi またはM. lysodeikticus の2mg/ccの生理食塩水浮游液を0.1cc宛接種し、37°C/20時間培養の後、培養全液を鳥湯沈澱計に移し、3000R.P.M./20分遠心沈澱して菌量を測定し、第2章に記述した方法によつて成績を観察した。

実験成績を見ると、S. typhi の場合、10例の唾液について全例に培地の溷濁が見られ、発育菌量は対照培養のその67~117%、平均値は95%となり(表22)、M. lysodeikticus の場合も同様であつて、5例の唾液について全例に培地の混濁を見、菌量は95~

125%、平均値109%となつた(表23)。

表 22 S. typhi に対する成績

番 号	氏 名	性	年 令	菌量(%)
1	S. A.	♂	40	100
2	M. N.	♀	20	70
3	K. H.	♀	26	87
4	H. M.	♂	31	117
5	K. T.	♂	31	87
6	K. N.	♂	61	68
7	T. I.	♀	34	89
8	H. M.	♀	23	79
9	C. K.	♂	37	67
10	K. S.	♂	38	86
平 均 値				95

表 23 M. lysodeikticus に対する成績

番 号	氏 名	性	年 令	菌量(%)
1	S. A.	♂	40	125
2	M. N.	♀	20	100
3	K. T.	♂	50	113
4	E. O.	♀	18	113
5	K. H.	♀	26	95
平 均 値				109

S. typhi が抗チフス免疫個体の唾液によつて著明に発育を抑制されることは著者の別報に示したとおりである(麻生1958)。また、BCG免疫及び結核感染を受けた個体の唾液の結核菌の発育を抑制する作用の著明な増強を来すことも既に述べたとおりであるが、この実験に見るように、S. typhi に対しては何等の作用を呈しないのであつて、交叉試験として抗チフス血清を結核菌に作用させる実験を缺いたのは遺憾であるけれども、これだけでも抗結核免疫唾液の抗菌因子の特異性は略々窺えるであろう。しかし、結論を急がず、実験と観察を更に進めてみたいと思う。

実験Ⅲ. 唾液の溶菌物質について

第3章(Ⅱ)に於いて言及したように、唾液の抗菌作用を受けた結核菌は、大部分抗酸性を失い、また、菌体の両端が蝕食されたような形になつたもの、定型的な形状を示さないもの、難染性を示すもの等が混在するのであるが、これは部分的に溶菌された結果ではな

いかと想像し、唾液に含まれる溶菌酵素(lysozyme)の作用に注目し、次の実験を行つた。

松永(1955)の実験方法により、結核患者の濾過唾液 3.0cc を試験管に採り、それに Sauton 培地に3週間培養した人型菌青山B株を生理食塩水に 8mg/cc の濃度に浮游させた菌液を駒込ピペットで3滴滴下して混和し、37°C/96時間静置の後、Ziehl-Neelsen 染色による所見を鏡見した。この場合、第1章に於いて記述したように、37°C に於いて唾液の作用を受けた結核菌は凝集として粗大な菌塊となるので、比濁法による溶菌の測定はできない。

実験成績を見ると、37°C/96時間生理食塩水に漬けられた結核菌(対照)は、定型的抗酸性桿菌が大部分を占めているのであるが、唾液浸漬の結核菌に於いては、唾液加培地で培養した場合よりも著明に菌体の崩壊が認められ、しかも、抗酸性を失つて青染したものが多数に観察された。100°C/15分の加熱を施した唾液に於いても、結核菌は凝集し、かつ、同様の結果が得られた。

実験Ⅳ. 免疫処置が唾液の溶菌作用に与える影響

第2章(Ⅳ)に記述した抗結核免疫処置による唾液の抗結核菌作用の増強が免疫性溶菌現象に因るものか酵素性溶菌作用に因るものであるかを見るために、正常家兎と免疫家兎の唾液の溶菌作用を比較検討した。しかし、結核菌では桿状形あり、顆粒形或いは糸状形ありというように形態が多様であるので、溶菌作用を

受けたという境界を決定することが困難であると考え、lysozyme 感受性の最強の *M. lysodeikticus* を使用して観察した。

第2章(Ⅳ)に記述した方式によつて、ツベルクリン陰性の家兎2匹を結核菌を以つて免疫し、最終免疫終了後5週目に1%塩酸ピロカルピン液 0.3cc を注射し、流出する唾液を採取して氷室に1昼夜保存し、Seitz 濾過器で濾過して実験に供した。免疫家兎および正常家兎各2頭の濾過唾液を原液とし、それを生理食塩水を以つて逡進倍數稀釈したものごとを2cc宛1列の試験管に入れ、*M. lysodeikticus* の 8mg/cc の菌液を 0.1cc 宛混入し、37°C(孵卵器)に96時間静置した後、それから塗抹標本を作製し、Ziehl の Carbol-fuchsin 染色所見を鏡見した。

光学顕微鏡を以つて形態学的に溶菌と否との限界を正確に判定するのは困難を覚えたが、大体に於いて、菌体形状に著明な異常を大多数に認めた場合を溶菌(+)と判定し、表24に示すように、免疫家兎の唾液では1:8の稀釈まで、正常家兎のそれでは1:2の稀釈まで溶菌が認められ、抗結核免疫によつて異種菌に対する溶菌作用の幾分か増強したことが知られた。

しかし、鏡検所見による成績は確実とは言えないので、培養試験を行い、*M. lysodeikticus* を混入して37°C/96時間静置した唾液を1白金耳宛普通寒天培地に20時間培養すると、免疫家兎の唾液原液の場合だけは全然集落の発生を見なかつた(表25)。

表 24 結核免疫家兎唾液の *M. lysodeik.* に対する溶菌成績

	番号	原液	2 ×	4 ×	8 ×	16 ×	32 ×	64 ×	128 ×	256 ×	512 ×	1024 ×	2048 ×
免疫家兎 {	I	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	II	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
正常家兎 {	III	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	IV	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+……溶菌

表 25 結核免疫家兎唾液の *M. lysodeik.* に対する殺菌成績

	番 号	原 液	2 ×	4 ×	8 ×	16 ×	32 ×	64 ×
免疫家兎 {	I	—	+	+	+	+	+	+
	II	—	+	+	+	+	+	+
正常家兎 {	III	+	+	+	+	+	+	+
	IV	+	+	+	+	+	+	+

+……集落発生

しかし、結核菌を以て免疫をしたのに、*M. lysodeikticus* を殺菌する作用が現われたことは、溶菌作用に関する限り、唾液抗菌性の因子は免疫学的特異性によらないという結論を得られることになるが、第4章(Ⅰ)に述べたように、抗結核唾液は結核菌の発育を抑制して異種菌の発育は抑制しないという事実もあるので、簡単に結論は下されない。むしろ、この場合、*M. lysodeikticus* の溶菌現象は、免疫・非免疫を問わず、唾液中に含まれる lysozyme (従来の報告に較べて力価が余りに低い) に類似の酵素作用に帰するのが妥当かも知れない。

小 括

1) 56°C/30分或いは100°C/15分加熱した唾液を濾過して、凝固蛋白質等の固形成分を除去して実験に供すると、それによつて結核菌の発育は著明に抑制され、唾液抗菌性の作用因子は——結核菌に関する限り——耐熱性であると言うことができる。加熱唾液を濾過せずに液体培地と混和して結核菌を培養すると、凝固蛋白質等の夾雑物のために発育が促進されるように見えるが、唾液抗菌因子が加熱のために失われたのではない。

2) Bouillon に抗結核免疫の唾液を等量に加え、*S. typhi* 又は *M. lysodeikticus* を培養すると、これら細菌の発育は抑制されないが、しかし、結核免疫唾液に培養液を加えずに、*M. lysodeikticus* を入れ、37°C に96時間置くと、完全に殺菌されるのを認めた。

3) 結核患者の濾過唾液に結核菌を混入し、37°C の温度で96時間作用させると、鏡検的に溶菌像を認め、かつ、大部分の菌体は抗酸性を喪失し、この作用は唾液を加熱しても影響されなかつた。

4) 抗結核免疫家兎の唾液は、1:8の稀釈まで *M. lysodeikticus* に対して溶菌作用を示したが、正常家兎唾液のそれは1:2稀釈までに止どまつた。

第5章 免疫による熱凝固性唾液蛋白質の変動

唾液には、諸種の成分の他、単純蛋白質と類蛋白体が存在し、単純蛋白質としてはAlbuminとGlobulinが含まれている(Berger 1955)、辻(1958)の研究によれば、流動パラフィン結核死菌ワクチンで免疫された家兎の血清に於いてはAlbuminが減少し、結核菌発育抑制の一因子をなすと考えられている。著者は、抗結核免疫家兎の唾液のAlbuminの消長を電気泳動法によつて測定しようと考えたが、久保(1955)及び

小林(1955)の業績を見ると、濃縮唾液を濾紙電気泳動しても、AlbuminおよびGlobulin分劃が現われなと報告されているので、計画を変更して、加熱によつて凝固した蛋白質の量を測定することにした。

第4章(Ⅳ)の実験に於いて用いた抗結核免疫家兎および正常家兎各2頭の唾液をSeitz濾過器で濾過して有形含有物を除去して、2cc 宛試験管にとり、恒温槽で100°C/15分加熱した後、鳥瀉沈澱計に移し、3000R.P.M./20分遠心して凝固性蛋白質の量を測つた。

表26に示した実験成績のように、正常家兎唾液の凝固性蛋白質の量を沈澱計の目盛で測つた平均値は2.8、抗結核免疫家兎のそれは平均値1.6となり、抗結核免疫処置を受けた動物の唾液の凝固性蛋白質の減少することを認めた。

表 26 凝固性蛋白量

	番 号	蛋白量	平均値
免疫家兎 {	I	1.7	1.6
	II	1.5	
正常家兎 {	III	3.0	2.8
	IV	2.5	

小 括

少数の実験に過ぎないが、家兎唾液中の凝固性蛋白質の量は、抗結核免疫処置を行うことによつて減少するが、それは免疫血清の総蛋白が一般に増加するという事実と反対の結果である。

考 察

緒言に綜説したように、唾液抗菌性に関する研究は少くないが、諸家の報告を見ると、大抵、“平板計算法”(plate counting method)を用いている。斜面固形培地でも集落を測定するという原理は同じであるが、結核菌に関する限り、適当な方法であるとは言えない。第一、唾液に結核菌を混入し、37°C/24時間静置すると、結核菌の場合では菌体が凝集して沈澱し、強力に振盪しても平等に拡散することがない。これは濾過唾液並びに加熱唾液によつても起こる現象であつて、凝集素によるものでなく、唾液の表面張力のような物理的作用によるのではないかと推察される。それを平板培地に接種培養し、其処に発生する集落の数を算えるにしても、それは結核菌の個体の数を示すのではな

くて、唾液により凝集された菌塊の数を表わすだけであるから、精密な実験とは言えないであろう。平板計算法の第二の難点は、結核菌の実験の場合、唾液中に含まれる雑菌を殺すために、 H_2SO_4 又は HCl 或いは NaOH を以てて処理するが、それによつて結核菌の大部分が殺滅されるので、このような数量的計算を目的とする実験には適当ではない。小川 (1951) によれば、3~4% NaOH で処理された結核菌の混在する材料は、その儘、3% の KH_2PO_4 を含むために酸性になつている小川培地に植えても結核菌の発育は良好であるというが、著者の実験によれば、それを10% HCl で中和して培養すれば、集落数を遙かに増し、また、供試唾液を濾過によつて無菌とし、 NaOH 処理をしない場合は、集落数が更に増すことが認められた。この問題に就いては、大平 (1948) も高濃度硫酸の傷害作用を強調しているし、植田 (1951) も H_2SO_4 の濃度の増加につれて集落数が目立つて減少したと述べている。また、植田 (1957) は、 H_2SO_4 の低濃度で死滅する菌体もあれば、高濃度に抵抗するものもあり、核分裂を起こして発芽する幼若形が抵抗強く、菌糸形・桿状形は抵抗が弱いと思われると言っている。Alkali の場合も著者の実験から見て同様のことが言えるのではないかと思う。

植田 (1951) の説によると、固形培地上の結核菌の集落の内部構造は、集落全体が一様に抗酸性菌或いは非抗酸性菌で占められているのではなく、繊維状体が緻密に吻合している中に抗酸性の桿状形および顆粒形が束状に列び、その間隙に非抗酸性の桿状形・顆粒形の菌体が見出されるのであつて、従つて、白金線を以てて釣菌する際、抗酸性菌体の集合している部分に触れるか、非抗酸性菌体の多い部分に触れるか、偶然の機会によつて標本の所見が左右される筈である。また、唾液の作用に耐えて生き残つた菌体を固形培地に移植すれば、極微量の唾液が附着しているにしても、その影響は言うに足らないし、其処で正常に近い発育をするわけで、著者の実験に於いて、固形培地に移植された結核菌に唾液による形態の変化の見られなかつたのも当然であろう。この点から見ても、唾液抗菌性の実験に於いては、固形培地法は適当でないと考えられる。

結核病期又は病状によつて、その患者の唾液の抗結核菌作用に差を生ずるであろうことを観察するために、発育の遅い人型菌の代わりに発育の速い鳥型菌を使用した。大平 (1948)、平野、福士 & 大津 (1955) は、鳥型菌は人・牛型菌に比して唾液の影響を受け難

いと報告しているので、この場合、それを実験に供したのは賢明ではなかつたかも知れない。

しかるに、液体培地に濾過唾液を混和し、それに結核菌を培養して発育した菌量により抗菌作用を判定する著者の方法に於いては、健康者ではツ反陽性者の唾液が陰性・疑陽性者のそれよりも抗菌作用が強く、結核患者では健康者よりも更に強く、中等症・軽症の患者の唾液の作用は重症のそれよりも強いという成績が得られた。これは緒方 & 渋川 (1932)、今村 & 渋川 (1933)、石塚 (1955)、神田 (1956) らが血液乃至血清の結核菌増殖阻止作用を研究した成績に類似しており、一方、占部 & 大曲 (1941) が重症者の唾液が軽症のそれより抗菌作用が強いと報告しているのは、病勢分類の基準を異にするためと思う。渋川 (1933) は negative Anergie の重症結核患者の血液の結核菌増殖阻止作用は減弱すると報告しているが、著者の唾液についての実験に於いては、重症者のツベルクリン陽性者と陰性転化した者との間に差を認めなかつた。これは最近化学療法が進歩したために、死期に近い重症患者に接することが稀になつて、そのような症例が著者の実験に含まれなかつた所為もあると思う。

BCG 接種を受けた人、並びに、流動パラフィン結核死菌ワクチンによつて免疫された家兎の唾液の抗結核菌作用が増強したことは、伊藤 (1930)、大友 (1946)、鶴見 & 不破 (1951)、須永 (1951)、小谷ら (1955)、武内 (1955) が抗結核免疫動物の血液に就いて観察したことと共通する事実であるし、血中抗体が唾液に移行して抗菌作用を呈するという想定に傾かせる。著者が抗チフス免疫家兎に於いて血中抗体が唾液に移行したと思われる成績を得たことは別報のとおりである (麻生 1958)。結核免疫は細胞性のものであつて体液性のものではないという説があるが、一方、血中抗体の結核菌に対する防禦力を認めた報告も多数ある (伊藤 1930、緒方 1932、渋川 1933、室谷 1947、本間 1951、辻本 1952、武内 1955、小谷 1955、小谷ら 1955、今村 1956)。また、結核症及び結核免疫の個体の血清に於いては、 γ -Globulin が増量し、Albumin 量が減少するという業績の報告もあつて (橋本ら 1949、橋元ら 1950、田村 1950、金上 1950、不破 1951、鶴見ら 1951、西谷 1951、沖中ら 1952、土屋 1955)、体液過程の免疫性の成立も否定されない。著者の実験に於いては、抗結核免疫唾液が結核菌の発育を著明に抑制したのに、*S. typhi* 及び *M. lysodeikticus* の発育には何等の影響をも与えなかつたので、その点、特異性が認められるのであるが、 $100^\circ\text{C}/15$ 分加熱しても殆

ど抗菌作用の減弱を認めず, “抗体” 以外の何物かが共存することを考えねばならない. *M. lysodeikticus* が抗結核唾液によつて殺菌されたことは, それが非特異的抗体の作用によることを証明するのではなくて, むしろ, lysozyme 様の抗菌因子の共存が考えられるのである.

耐熱性抗菌因子として考えられるものは, まづ, Zeyland & Piasecka-Zeyland (1938) が主張した Thiocyanate があるが, これは唾液に含まれる量では pH 1.5~2.0 という酸性域でないと活性化されないことが判明し, 現在では唾液の抗菌物質としては否定されている (Berger 1955). Knorr (1641) が命名した “Bakterionoxyne” は, 耐熱性の白血球物質であつて, 唾液中に含有され, 発育抑制乃至殺菌作用を持つと報告されているが, その本態が確実に証明されていないようであるし, また, 結核免疫によつて増強されるか否かも知られていない. 免疫 Opsonin も結核免疫に於いては重要な役割をなすと考えられ, 耐熱性でもあるが (Berger 1955), 白血球を含まない濾過唾液の作用には関係がない. Fleming (1922) によつて発見された溶菌物質 lysozyme があるが, これは唾液にも含まれ, 耐熱性で (“relatively thermolabile” とも記載されている), 濾過性があると言われる 1 種の酵素に属し (Abraham, E. P., Biochem. J., 33 : 622, 1939), 感受性細菌の多糖体を分解することによつて溶菌作用を呈し (Epstein, L. A. & Chain, E., Brit. J. exp. Path., 21 : 339, 1940), 皮膚, 粘膜, 分泌物, 浸出液, 諸臓器に分布し, 1 : 300 稀釈の唾液に含まれるそれは, *M. lysodeikticus* を殺滅するに充分であると報告されている (Fleming, A. & Allison, V. D. 1922). Dubos (1953) は結核菌の発育阻止物質の一つに lysozyme 様物質を挙げている. Myrvik et al (1951/1953) は, 流動パラフィン結核死菌免疫家兎の血清に lysozyme が増量したのを証明し, 人型菌 *H₃₇Ra* および *H₃₇Rv* よりも BCG 菌の方が感受性が強く, 牛型菌よりも鳥型菌が抵抗力が強いと報告し, また, 辻 (1958) も抗結核免疫家兎の血清の Albumin 分割の中に lysozyme 様物質が混在増量して結核菌の発育に影響することを観察した. 著者の実験によれば, 人唾液を濾過して結核菌を混入し, 37°C/96 時間静置して鏡検すると, 多少菌体の崩壊する部分が認められ, 染色性に於いては大部分が抗酸性を失うことが知られたが, それによつて——発育は抑制されるが——殺菌されるには至らなかった. また, 抗結核免疫家兎唾液は, lysozyme に

感受性の強い *M. lysodeikticus* を 37°C/96 時間の作用によつて完全に殺菌したが, それを 2 培に稀釈すると, その作用は失われた. 従来報告に徴するに, lysozyme と言うためには力価が余りに低くて殆ど無いに等しいが, それにしても抗体以外の何かがあつて, それも唾液抗菌性の 1 因子をなすと考えられ, それを lysozyme 様物質であると言えらると思う.

概括及び結語

結核菌に対する唾液の作用を研究するに当たつて, 従来慣行されている平板計算法 (plate counting method) に準拠する方法——すなわち, 結核菌を唾液に混じて或時間の後, H_2SO_4 又は $NaOH$ を以つて雑菌を殺して固形培地に播種し, 其処に発生する集落の数を計算して唾液の効果を判定する方法は, 結核菌が唾液のために凝集されて個体の数をわからなくし, また, H_2SO_4 又は $NaOH$ のために多数の菌体が殺滅され, このような精密な観察を目的とする実験には適当でないことが知られた. それ故, 著者は, Kirchner の液体培地に濾過唾液を混入し, それに結核菌を 37°C/3 週間培養した後, 鳥瀉沈澱計を以つて発育菌量 (容量) を計量する方法を考案し, それによつて明確な成績が得られたと信ずる.

1) 対照培地に発育する菌量を 100% として比較すると, 唾液を加えた培地に於いては, ツベルクリン陰性の健康者の場合は 56 例の平均 36.2%, ツベルクリン陽性の健康者の場合は 50 例の平均 23.6%, 両者の間に有意の差があつて, 或程度の感染によつて結核菌の発育を抑制する唾液の作用の増強することが知られた.

2) 抗結核化学療法剤, Streptomycin, PAS, INH を投与することによつて, 結核菌の発育を抑制する唾液作用は幾分は増強するけれども, 投薬後 4 時間で正常に復する.

3) 唾液添加の培地に発育する結核菌の容量は, 健康者の場合は 106 例平均 30.3%, 結核患者の場合は 108 例平均 21.3%, 唾液抗菌性が顕症感染に於いては増強されたことが窺われた, しかし, 病勢進展度によつて分析すると, 軽症の場合は 50 例平均 18.6%, 中等症の場合は 31 例平均 17.0%, 重症の場合は 27 例平均 31.4%, すなわち, 唾液抗菌性も病勢が余り進めば低下することが見られた.

4) 中学並びに看護婦生徒 36 名の唾液に就いては, 発育菌量平均 37.8%, これを BCG 接種によつて免疫すると, 5 ケ月後, 発育菌量 21.1% となり, また, 正常家兎唾液添加による発育菌量は 10 例平均 44.3%, こ

れを流動パラフィン結核死菌ワクチンを以つて免疫すると、それによる発育菌量は10例平均19.1%、唾液抗菌作用が免疫処置によつて亢進することが知られた。

5) 結核患者の濾過唾液は、結核菌の発育を或程度まで抑制するにも拘らず、*Salmonella typhi* 及び *Micrococcus lysodeikticus* に対しては格別の影響を及ぼさないで、一応、免疫学的特異性が認められねばならない。しかし、56°C/30分、100°C/15分の加熱によつても抗菌作用は殆ど影響されず（幾分は軽減するが）、抗体以外の何かの共存が考えられた。

6) 一方、結核患者の濾過唾液は、加熱・非加熱に関らず、稀釈しない状態で、*Micrococcus lysodeikticus* を 36°C/96 時間の接触で完全に殺滅した。Lysozyme と言うためには、力価も余りに低いし、熱抵抗も余りに高いと思われるが、lysozyme様の物質の介在も考えられねばならない。

7) 唾液添加によつて著明に発育の抑制された結核菌は、形態学的に崩壊を示す個体があつて、非抗酸性

菌体の出現は対照培養の10.1%より遙かに増して67.6%になつた。しかし、それによつて殺滅されるに至らず、発育抑制を見たに止どまつた。

8) 唾液の熱凝固蛋白質の遠心沈澱量は、正常の場合は 2.8（沈澱計目盛による）、免疫の場合は1.6を示し、免疫血清の総蛋白量の増加という一般の事実に対の結果が見られた。

結語：——唾液の結核菌発育抑制作用は、免疫処置によつて増強し、それは血中抗体の移行によると考えられるが、そればかりではなく、lysozyme 様の抗菌物質の介在にも帰せられねばならない。

この論文を終わるに臨んで、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師登倉教授に対して、並びに、種々御配慮と御援助を賜つた所長後藤博士に対して、また、御助力を頂いた医務課長小田博士並びに同僚各位に対して、衷心から感謝の意を表します。

文 献

- [1] 麻生 聡：唾液のチフス菌に対する発育抑制作用。長崎医学会雑誌，33（11）（増刊号）：13—21，1958。
- [2] Berger, U. : Mikrobiologie der Mundhöhle für Zahnärzte und Studenten (231—254). Urban & Schwarzenberg, München, 1955.
- [3] Dold, H. und Ochsenreither, F. : Über Tuberkelbazillen-feindliche Stoffe im Speichel. Z. Tuberk., 85（6）：326—332, 1940.
- [4] Dubos, R. J. : Viability of tubercle bacilli in vivo with and without chemotherapy. Am. Rev. Tuberc., 67（6）：874—877, 1953.
- [5] Fleming, A. : On a remarkable bacteriolytic element found in tissue and secretion. Proc. Roy. Soc., B, 93 : 306—307, 1922.
- [6] Fleming, A. & Allison, V.D. : Observation on a bacteriolytic substance (Lysozyme) found in secretions and tissue. Brit. J. exp. Path., 3 : 252—260, 1922.
- [7] 古川牧一：抗生物質の定量，体内分布，並びに腎排出に関する研究，特に研究方法の新考察（2）：ストレプトマイシンの体内分布，淋巴内，髄液，唾液内移行に関する研究。通信医学，8（10）：792—801, 1956。
- [8] 不破博徳：結核免疫に関する研究（V）：人型結核菌接種動物に於ける塩析法による血清蛋白分層の定量的観察。東京医事新誌，68（6）：13—14, 1951。
- [9] 橋元富一郎：結核患者の γ -グロブリンの消長。結核，25（9, 10, 11）：485, 1950。
- [10] 橋本敏雄，岡本蓉子：結核患者に於ける血漿蛋白質に就て（I）。東京医事新誌，66（12）：578—580, 1949。
- [11] 日置達雄：結核喀痰中に存する結核菌増殖阻止物質に就て。結核，14（8）：734—748, 1936。
- [12] 平野英之助，福士清，大津運司郎：人唾液の結核菌並に非病原性抗酸菌に対する発育阻止作用に関する研究（I）。弘前医学，6（1）：14—25, 1955；同（II）。同誌，6（3）：62—69, 1955；同（III）。同誌，6（3）：70—73, 1955；同（IV）。同誌6（3）：74—77, 1955。
- [13] 本間日臣：結核菌の全血内培養法による臨床的研究。生体防禦反応機序に関する研究（I）。結核，26（12）：617—621, 1951。
- [14] 今村荒男，渋谷隆曹：健康人並に肺結核患者の全血液の中に於ける人型結核菌の増殖に就て。結核，11（4）：209—216, 1933。
- [15] 今村荒男：全血液等における結核菌の増殖およ

- びその阻止に関する免疫学的研究。日本臨床結核，15 (6) : 399-418, 1956.
- [16] 石塚正治：結核性疾患の際の体液の結核菌増殖阻止作用とツベルクリン反応に就て。千葉医学会雑誌，31 (4) : 472-478, 1955.
- [17] 伊藤種次郎：結核免疫動物血液の結核菌増殖阻止作用に関する知見補遺。結核，8 (3) : 291-329, 1930.
- [18] 柿沼奎郎：人唾液の細菌感染阻止作用に関する研究 (Ⅱ)：結核菌に対する人唾液の抗菌的発育阻止作用に関する実験。岩手医学雑誌，3 (2) : 75-88, 1951.
- [19] 金上晴夫：チセリウス装置による肺結核患者の血清分析。結核，25 (9, 10, 11) : 487, 1950.
- [20] 神田正一：スライド培養法による結核血清の結核菌増殖阻止力に関する研究。長崎医学会雑誌，31 (8) : 573-585, 1956.
- [21] 片山有夫：細菌発育促進物質としての無菌人唾液に関する研究。日本細菌学雑誌，9 (5) : 365, 1954.
- [22] 片山有夫：細菌発育促進物質としての無菌人唾液に関する研究 (Ⅲ)：無菌人舌下腺顎下腺唾液中の人型結核菌発育促進因子。歯科医学，18 (4) : 501-520, 1956.
- [23] 片山有夫，田長俊郎，角田豊作，山本泉：微生物の発育に及ぼす唾液腺 Hormon (Parotin) の作用 (Ⅰ)：人型結核菌に対する作用。歯科医学，18 (2) : 143-145, 1955.
- [24] 勝沼六郎：結核の化学療法 (263-332)。医学書院，東京，1953.
- [25] Knorr, M. : Über Gewinnung, Wirkung und Herkunft der keimschädigenden Stoffe („Bakterionoxine“) im Mundspeichel. Arch. Hyg. Bakt., 126: 59-86, 1941.
- [26] 小林茂三郎：髄液蛋白質——濾紙電気泳動法による微量蛋白の分割法。最新医学，10 (10) : 159-166, 1955.
- [27] 児玉 得：骨関節結核症に於ける結核菌の生態。整形外科，2 (1) : 16-24, 1951.
- [28] 小谷尚三，衣川洋，細川一真，山田享，井上安雄，辻本兵博，阿部一郎：抗体による結核菌増殖阻止——人血清についての検討を中心とした成績。結核，30 (増刊号) : 112-113, 1955.
- [29] 小谷尚三：結核菌に対する免疫性抵抗。結核の臨床，3 (9) : 6-18, 1955.
- [30] 久保雅久：唾液腺の糖質代謝機能に関する研究。久留米医学会雑誌，18 (5/6) : 221-237, 1955.
- [31] 松永文江：Lysozyme溶菌に関する研究，特に lysozyme 感受性の人為的転換 (Ⅰ)：Lysozyme 感受性菌株の分離，それらの一般性状。長崎医学会雑誌，30 (10) : 1339-1347, 1955.
- [32] 森 政和：人耳下腺唾液を応用した培地に関する研究 (Ⅰ)：各種結核菌の培養。歯科医学，14 (2) : 225-244, 1951.
- [33] 室谷武男：人全血液内に於ける結核菌の増殖阻止作用。労働科学，22 (4) : 31-55, 1947.
- [34] Myrvik, Q. N. & Weiser, R. S. : A tuberculostatic serum substance possessing lysozyme-like properties. Am. Rev. Tuberc., 64 (6) : 669-674, 1951.
- [35] Myrvik, Q. N., Weiser, R. S. & Agar, H. D. : Lethal and cytologic effects of lysozyme on tubercle bacilli. Am. Rev. Tuberc., 67 (2) : 217-231, 1953.
- [36] 西谷強，浅野元康：結核免疫の研究 (Ⅹ)：血清中の結核菌発育阻止作用と γ -グロブリンとの関係。東京医事新誌，68 (11) : 17-18, 1951.
- [37] 大平 実：唾液の結核菌増殖阻止作用に関する研究 (Ⅰ)：各種唾液の増殖阻止作用。結核研究，4 (1) : 12-31, 1948；同 (Ⅱ)：唾液の影響を蒙った結核菌の酸及びアルカリに対する態度。同誌，4 (2) : 13-29, 1948；同 (Ⅲ)：各型結核菌に対する作用。同誌，4 (3) : 15-23, 1948.
- [38] 大江正次：人舌下腺腺に顎下腺唾液を応用した培地に関する研究 (Ⅰ)：各種結核菌の培養。歯科医学，14 (2) : 245-261, 1951.
- [39] 緒方準一，渋川隆曹：健康成人血液の人型結核菌増殖阻止作用。結核，10 (5) : 247-255, 1932.
- [40] 緒方準一：全血液内に於ける結核菌増殖に関する知見補遺。結核，10 (3) : 117-149, 1932.
- [41] 小川辰次：結核菌検索の基礎と応用 (115-118)。保健同人社，東京，1951.
- [42] 沖中重雄，中尾喜久，長沢潤，高橋務，土屋豊，田中哲夫，安芸基雄，彦坂亮一，茂在敏司，豊倉康夫，桃井宏直，前川正，原沢道美，吉田清一，竹本忠良：結核症に於ける生体防禦機構に関する研究。結核，27 (9) : 23, 1952.
- [43] 大友孝蔵：BCG 接種家兎の全血内結核菌増殖阻止作用について。抗酸菌病研究会雑誌，1 (1) : 44-48, 1946.

- [44] Rosenthal, L. D., McNabb, W. M. & Raymond, C.: The identity of an antibacterial factor in the saliva of certain mammalia. J. Am. Dent. Ass., 26 : 1859-1862, 1939.
- [45] 阪本孫重: 肺結核患者喀痰中に存する免疫体に関する研究. 結核, 11 (1) : 3-37, 1933.
- [46] 渋谷隆曹: 重症肺結核患者の全血液中に於ける人型結核菌の増殖に就て. 結核, 11 (2) : 63-117, 1933.
- [47] 園山 昇: 人唾液の所謂殺菌作用 (Ⅱ) : 各大口腔腺からの分泌唾液のデフテリー菌に対する作用. 新潟医学会雑誌, 64 (12) : 851-856, 1950.
- [48] 須永 寛: 結核免疫の研究 (Ⅳ) : BCG 接種海猿血清の人型結核菌発育阻止作用に就いて. 東京医事新誌, 68 (5) : 16-17, 1951.
- [49] 高橋礼三: 細菌発育促進物質としての無菌人耳下腺唾液に関する研究 (Ⅰ) : 無菌人耳下腺唾液の Aceton 劃分が人型結核菌の発育に及ぼす影響. 歯科医学, 19 (1) : 69-70, 1956.
- [50] 武内勝彦: 抗体と考えられる結核菌増殖阻止因子の研究. 大阪大学医学雑誌, 7 (6) : 623-630, 1955.
- [51] 田村史郎: 結核血清の性状に関する実験的研究 (Ⅰ) : 結核家兎血清の性状に就いて. 結核, 25 (9, 10, 11) : 488, 1950.
- [52] 田中邦雄: 人唾液の結核菌発育抑制作用. 結核, 21 (6) : 3-4, 1943.
- [53] 土屋 豊: 結核症と血漿蛋白質. 最新医学, 10 (10) : 179-189, 1955.
- [54] 辻周介, 日置辰一郎, 伊藤薫, 陶棟土, 大島駿作: 結核に対する生体の防衛力に関する研究 (Ⅱ) : 自然抵抗力に於ける液性因子の意義. 最新医学, 11 (5) : 210-216, 1956.
- [55] 辻周介, 伊藤薫, 大島駿作: 結核に対する生体の防衛力に関する研究 (Ⅲ) : 獲得性抵抗力としての体液及び血清の結核菌発育阻止現象. 最新医学, 11 (6) : 134-139, 1956.
- [56] 辻 周介: 結核における生体の防衛機序; とくに体液性因子について. 結核, 33 (増刊号) : 1-13, 1958.
- [57] 辻本兵博: Slide Cell Culture 法の検討. 大阪大学医学雑誌, 4 (4) : 263-276, 1952.
- [58] 鶴見三三, 不破博徳: 結核免疫の研究 (Ⅲ) : BCG 予防接種と全血液内結核菌培養成績との関係. 東京医事新誌, 68 (4) : 3-4, 1951.
- [59] 植田三郎: 結核菌の研究 (1-7 ; 26-28 ; 71-73). 南江堂京都支店, 京都, 1951.
- [60] 植田三郎, 戸田忠雄, 武谷健二, 牛場大蔵, 柳沢謙, 大友信也, 堀三津夫, 島村喜久治, 金井興美, 室橋豊穂, 青木貞義, 橋本達一郎, 山村雄一, 貝田勝美, 久田太郎: 日本結核全書, Ⅱ. 結核菌および結核症の基礎的問題 (1-32 ; 225-286). 金原出版, 東京, 1957.
- [61] 梅本芳夫, 森政和, 覚道幸男, 録形勝, 日高靖雄: 人耳下腺唾液の無菌的採取法と人耳下腺唾液を用いた培地. 日本細菌学雑誌, 4 (4) : 206, 1949.
- [62] 占部薫, 大曲靖夫: 人唾液の結核菌に対する殺菌作用: 分泌液及び排泄物の結核菌に及ぼす影響に関する研究 (Ⅰ). 日本医学及健康保険, 3244 : 13-16, 1941.
- [63] 山口正義: 実態調査からみた結核の動態. 結核, 30 (増刊号) : 50-58, 1955.
- [64] 山本 寿: Slide Culture Method (SCM) に関する研究 (Ⅱ) : 結核菌の単個菌培養法としての SCM に関する研究. 京大結研紀要, 3 (1) : 49-56, 1954.
- [65] 山村雄一, 中村滋, 矢坂茂: 結核のアレルギー. 結核新書, 33 (62-75). 医学書院, 東京, 1956.
- [66] Zeyland, J. und Piasecka-Zeyland, E. : Thiocyanate als der im Menschen Speichel auf Tuberkelbazillen baktericid wirkende Faktor. Beitr. Klin. Tbk., 91 : 249-251, 1938.

Summary

For the purpose of investigating a possible antibacterial, whether it be bactericidal or bacteriostatic, activity of the saliva on *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*, a series of experiments and observations were conducted by the author's own method. Quantity of bacterial cells having grown at 37°C by three weeks in a mixture of K.RODNER's medium and the Seitz-filtered saliva from man

and rabbits, both normal and immunized or infected with tubercle bacilli, was by TORIKATA's sedimentometer compared to that of these cells having grown in the control culture which any saliva was not added to. This procedure was thought methodologically better than the "plate counting methods". Although, even in the absence of any bactericidal or bacteriostatic effect, a reduction in the number of colonies might be caused by spontan or serological-specific agglutination of bacterial cells, such a erroneous result could be avoided by introducing this quantitative method at least.

1) It was demonstrated that the growth of tubercle bacilli was inhibited in quantity, in comparison to that obtained from the control culture (granting it 100 %), to 36.2% on the average by the saliva from 56 tuberculin-negative healthy people and to 23.6% on the average by the saliva from 50 tuberculin-positive healthy people. There was a significant difference between the both groups to be seen.

2) The growth-inhibitory activity on tubercle bacilli of the saliva was found to some extent accelerated by administering anyone of such antituberculous chemotherapeutics as streptomycin, PAS and INH to the donor of the saliva, but this effect was found completely disappeared within four hours after each administration. As a matter of course the saliva used for the experiment was taken in the intervals of the remedial effect in it

3) The growth of tubercle bacilli, being quantitatively measured, was found inhibited to 30.3% on the average by the saliva from 106 healthy, tuberculin-negative and tuberculin-positive people, and to 21.3% on the average by the saliva from 108 patients suffering from pulmonary tuberculosis. A further analysis of the result showed that the bacterial growth was inhibited to 18.6% by saliva samples from 50 minimal cases, to 17.0% by those from 31 moderately advanced cases, and to 31.4% by those from 27 far advanced cases, being respectively averaged. From this observation it was concluded that the antibacterial activity on tubercle bacilli of the saliva was further accelerated by infection of its donor with tuberculosis, and that it was rather depressed by a too far advance of disease.

4) Saliva samples from 36 tuberculin-negative middle-school students and probationer nurses showed a growth-inhibitory effect on tubercle bacilli to decrease to 37.8% on the average in quantity of the growth. But, when they were immunized with BCG, five months thereafter, this effect was found further accelerated to inhibit the bacterial growth to 21.1% in quantity. A similar result was obtained in animal experiment. The bacterial growth was inhibited by the saliva from 10 normal rabbits to 44.3% on the average, but it further went down to 19.1% by application of the saliva from the same animals, after they had been immunized with heat-killed tubercle bacilli in liquid paraffin.

5) The saliva from tuberculosis patients, inspite of its marked growth-inhibitory activity on tubercle bacilli in culture which it was half and half added to, had no effect in this respect on *Salmonella typhi* and *Micrococcus lysodeikticus*. It seemed evident that there was a specificity in the serological sense. But this effect

was found little influenced by heat at 56°C for 30 minutes or at 100°C for 15 minutes, which suggested a possibility that there might be not only a thermolabile antibody in the saliva but another thermostable agent taking part in this effect.

6) In each stratification of tubercle bacilli having scantily grown in a culture medium with the saliva from tuberculosis patients, there were a great many non-acid-fast cells abnormally increasing in the number amounting to over 67% of all to be seen, but they proved to be usually vegetative on a saliva-free medium. On the other hand, *Micrococcus lysodeikticus* was found completely sterilized by a contact with this saliva at 37°C for 96 hours, regardless of its being fresh or heated, but only when it was not diluted by culture medium. This bactericidal agent seemed too low in titre and too much thermostable to be identified with "lysozyme".

7) Quantity of heat-coagulated protein mass, being measured by T R KATA's sedimentometer, was 2.8 on the average in the saliva from 2 normal rabbits and 1.6 on the average in the saliva from 2 other rabbits immunized with tubercle bacilli. This result was to be considered as contradictory to the pattern of the immune serum generally increasing in the total protein content.

Conclusion : — The saliva from both man and rabbits possesses a growth-inhibitory activity on tubercle bacilli, and it is found further accelerated by immunization or infection of the donor with the same bacilli. However, it must be assumed that there is another thermostable natural agent, in addition to a specific antibody in the serological sense, very likely present in the saliva for revealing its antibacterial effect, in so far as tubercle bacilli are concerned.

(Tokura, N)